

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局(43) 国際公開日
2001年6月7日 (07.06.2001)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 01/39782 A1

- (51) 国際特許分類: A61K 31/765, A61P 43/00
- (21) 国際出願番号: PCT/JP00/08423
- (22) 国際出願日: 2000年11月29日 (29.11.2000)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願平11/344043 1999年12月3日 (03.12.1999) JP
- (71) 出願人(米国を除く全ての指定国について): 天藤製薬株式会社 (AMATO PHARMACEUTICAL PRODUCTS, LTD.) [JP/JP]; 〒620-0932 京都府福知山市笠町995 Kyoto (JP).
- (71) 出願人(日本についてのみ): 東海教育産業株式会社 (TOKAI EDUCATION INSTRUMENTS CO., LTD) [JP/JP]; 〒259-1143 神奈川県伊勢原市下柏谷164 Kanagawa (JP).
- (72) 発明者: および
- (75) 発明者/出願人(米国についてのみ): 村山千恵子 (MURAYAMA, Chieko) [JP/JP]; 〒243-0431 神奈川県海老名市上今泉5-38-1 Kanagawa (JP). 大泉幸雄 (OIZUMI, Yukio) [JP/JP]; 〒259-1117 神奈川県伊
- (81) 指定国(国内): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.
- (84) 指定国(広域): ARIPO 特許 (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI 特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:
— 国際調査報告書

2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイドスノート」を参照。

(54) Title: RADIOPROTECTING AGENT

(54) 発明の名称: 放射線防護剤

(57) Abstract: A radioprotecting agent which has an effect of protecting radiation without showing any harmful side effects; and drinks and foods with the use of the same. Namely, a radioprotecting agent, which contains as the active ingredient a mixture of cyclic and/or linear polylactic acids having a degree of condensation of 3 to 19, and drinks and foods with the use of the same.

(57) 要約:

本発明の目的は、放射線を防護する作用を有し、有害な副作用を有さない放射線防護剤、並びにそれを用いた飲食品を提供することである。本発明によれば、縮合度3～19の環状及び／又は鎖状のポリ乳酸混合物を有効成分として含む、放射線防護剤およびそれを用いた飲食品が提供される。

WO 01/39782 A1

明細書

放射線防護剤

技術分野

本発明は、生体における放射線障害に対する防護機能を有する放射線防護剤に関する。より詳細には、本発明は、一定範囲内の縮合度を有するポリ乳酸混合物を有効成分として含む、放射線防護剤に関する。

背景技術

原子力発電所における作業者、X線を使用するレントゲン検査技師、並びに癌などの放射線療法に従事する技術者や医師は、放射線の被爆を極力防止しながら作業している。しかし、被爆を完全に防止することは困難であり、作業に長期間従事した場合にはかなりの量の放射線に被爆する可能性がある。また、原子力発電所の事故などにより放射線を全身に一度に被爆してしまうと、被爆者は死亡したり、あるいは一定の潜伏期間後に生殖機能障害、骨髄機能障害又は皮膚障害等の臓器・組織レベル及び細胞レベルでの放射線障害が発現する。放射線による人体への障害を防ぐことを目的として、法令や放射線の事業所内における障害予防規定などによって個人の放射線による被爆を規制している。しかし、このような放射線防護基準をもってしても放射線被爆による障害を完全に防止できるわけではなく、また、放射線被爆から上記した障害の出現までには一定の潜伏期間があるため、症状の出現によって初めて被爆を知ることになるが、現在の医療水準ではこのような症状を治療することはかなり困難である。

また、日本人の死因の約1/4は癌であり、癌患者は今後とも増加すると予測されている。癌の治療方法の主なものは外科手術、放射線療法並びに化学療法であり、現在はこれらを組み合わせた治療が行われている。

放射線療法を受ける癌患者においては、一度にかなりの量の放射線を治療すべき悪性腫瘍部分に照射するが、悪性腫瘍部周辺の正常な組織にも放射線が照射さ

れる。そのため被爆した正常組織は、放射線によって生体内に発生したフリーラジカルにより細胞膜や染色体などの細胞内分子の酸化的な化学反応が起こって、細胞増殖の停止（細胞死）や突然変異の誘発等の重大な障害が引き起こされる。

放射線療法は、外科手術と並んで癌治療の根本的治療法であるが、放射線被曝により患者に様々な障害が出現するため、放射線療法の有用性は低下している。放射線照射により惹起される様々な障害を防護できる放射線障害の予防剤および治療剤を開発できれば、放射線療法において使用する放射線の量を飛躍的に増加することが可能となり、放射線療法の有用性を高めることが可能になる。

放射線障害を防護する薬剤としては、従来から、水素ラジカル供与性を有する β -メルカプトエチルアミンなどの数多くの各種アミノチオール類が知られている（菅原努ほか、「放射線と医学」、共立出版社、1986年）。しかし、上記した薬剤は、その強い副作用のため、有効な防護効果が発現するために必要とされる量を投与できず、いまだ実用化には至っていない。一方、代表的なビタミンEである α -トコフェロールは、クロマン環の6位の水酸基から水素原子を供与してフリーラジカルを消去する機能を有する化合物であり、抗酸化剤としてよく知られている。しかし、ビタミンEは、その分子内に長鎖の炭化水素基（フィチル基）を有するために、水に溶けない粘稠性の油状物である。このため、生体のフリーラジカルによる損傷を防ぐ目的でビタミンEを投与する場合には、内服液や注射剤などの溶液の形態では使用できないという欠点があった。

従って、放射線被爆から生体を防護する機能を有する新規な放射線防護剤の開発が切望されていた。

発明の開示

本発明は、放射線を防護する作用を有し、有害な副作用を有さない放射線防護剤、並びにそれを用いた飲食品を提供することを解決すべき課題とした。

本発明者らは、上記課題を解決するために銳意検討を行った結果、縮合度3～19の環状及び／又は鎖状のポリ乳酸混合物を放射線の照射前からマウスに投与

することによって当該マウスを放射線から防護することができることを見出し、本発明を完成するに至った。

なお、これまでの研究により、縮合度3～19の環状及び／又は鎖状のポリL-乳酸混合物は、抗悪性腫瘍剤として（特開平9-227388号公報および特開平10-130153号公報）、また癌患者のQOL改善剤として（特願平11-39894号明細書；日本癌治療学会誌第33巻第3号第493頁）有用であることが報告されている。また、縮合度3～19の環状及び／又は鎖状のポリ乳酸混合物は、血糖低下作用を有し、糖尿病又は糖尿病の合併症の予防及び／又は治療のための医薬として有用であること（特願平11-224883号）、食欲抑制、基礎代謝増進並びに肥満の改善及び／又は予防のために有用であること（特願平11-280931号）が判明しているが、放射線の防護のために有用であることは本発明者らにより今回初めて見出されたものである。

即ち、本発明の第1の側面によれば、縮合度3～19の環状及び／又は鎖状のポリ乳酸混合物を有効成分として含む、放射線防護剤が提供される。

本発明の放射線防護剤は、例えば、放射線療法の障害の予防及び／又は治療のために使用される。

好ましくは、ポリ乳酸中における反復単位である乳酸は実質的にL-乳酸から成る。

好ましくは、縮合度3～19の環状及び／又は鎖状のポリ乳酸混合物は、乳酸を不活性雰囲気下で脱水縮合し、得られた反応液のエタノールおよびメタノール可溶分を逆相カラムクロマトグラフィーに付し、pH2～3の25～50重量%のアセトニトリル水溶液で溶離後、pH2～3の90重量%以上のアセトニトリル水溶液で溶離した画分である。

好ましくは、脱水縮合は窒素ガス雰囲気下、段階的減圧及び昇温により行われる。

好ましくは、逆相カラムクロマトグラフィーは、ODSカラムクロマトグラフィーにより行われる。

本発明の別の側面によれば、縮合度3～19の環状及び／又は鎖状のポリ乳酸混合物を有効成分として含む放射線防護用の飲食品が提供される。本発明の飲食品で用いるポリ乳酸混合物の好ましい態様は上記の通りである。

本発明のさらに別の側面によれば、放射線防護剤または放射線防護用の飲食品の製造における、縮合度3～19の環状及び／又は鎖状のポリ乳酸混合物の使用が提供される。

本発明のさらに別の側面によれば、有効量の縮合度3～19の環状及び／又は鎖状のポリ乳酸混合物をヒトを含む哺乳動物に投与する工程を含む、放射線を防護する方法が提供される。

図面の簡単な説明

図1は、本明細書の製造例1で得られたポリ乳酸混合物の質量スペクトルを示す。

図2は、C3H/HeNマウス（コントロール群）の全身照射後の生存率を示すグラフである。

図3は、C3H/HeNマウス（CPL投与群）の全身照射後の生存率を示すグラフである。

図4は、C3H/HeNマウスの全身照射後30日目における致死率を示すグラフである。白丸はコントロール群、黒丸はCPL投与群を示す。

発明を実施するための最良の形態

本明細書で言う「放射線防護剤」とは、放射線被曝によりもたらされる細胞への悪影響から細胞または生物を保護するための薬剤を言う。本発明の放射線防護剤は、放射線被曝によって起こる有害な細胞障害から細胞を防護するために使用される。放射線は、物質内にイオン対を生成する作用を有するX線やガンマ線のような高エネルギー放射線である。放射線被曝は、核爆発や放射性物質の漏出、放射性材料への接近等から起こるような環境放射能の結果として起こる場合、並

びに各種腫瘍に対する放射線療法のような放射線治療の結果として起こる場合があり得る。

上記した細胞への悪影響としては、D N A鎖の切断などの細胞D N Aの損傷、細胞機能の混乱、細胞死および腫瘍の誘発などが挙げられる。放射線障害は、細胞の更新がたえず行われている組織（皮膚、口腔、小大腸、腫などの粘膜）に生じる急性障害と、更新が緩徐ないし全く行われない細胞または組織に生じる慢性障害とに分類される。慢性障害はさらに身体的障害と遺伝的障害が含まれる。放射線障害の例としては、放射線性胃炎、放射線性壞死、放射線性潰瘍、放射線性火傷、放射線性肝炎、放射線性口内炎、放射線性骨壞死、放射線性症候群（放射線宿醉）、放射線性上皮炎、放射線性食道炎、放射線性腎炎、放射線性脊髄症、放射線性繊維症、放射線性直腸炎、放射線性粘膜炎、放射線性肺炎、放射線性白内障、放射線性角膜炎、放射線性白血球減少症、放射線性皮膚炎、放射線性貧血、放射線性膀胱炎、放射線性白血病などが挙げられるが、これらに限定されるわけではない。本発明の放射線防護剤は、このような放射線被曝による障害の治療および予防のために使用することができる。

本発明の放射線防護剤は、放射線療法の補助剤として、放射線療法の障害の予防及び／又は治療のために使用することができる。例えば、腫瘍を治療するための放射線療法における放射線被曝は、癌細胞を死滅させるためのものであるが、正常細胞に対しても放射線の有害な細胞効果がもたらされる。本発明の薬剤は、放射線のこれらの有害な効果を予防または排除するか、又はその程度を軽減することにより、有害な細胞効果から細胞を防護することができる。

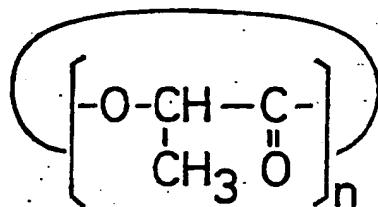
本明細書で言う「放射線療法」とは、例えば、腫瘍の放射線療法などが挙げられ、ここで言う腫瘍としては、急性リンパ芽球性、急性骨髄性、慢性リンパ球性、急性筋芽細胞性及び慢性筋細胞性の白血病などの白血病；頸部、食道、胃、脾臓、乳房、卵巢、小腸、結腸及び肺などの癌；骨肉腫、脂肪腫、脂肪肉腫、血管腫及び血管肉腫などの肉腫；非メラニン性及びメラニン性のメラノーマ；及びガン肉腫、リンパ様組織型、小胞細網、細胞肉腫、ホジキン病、及び非ホジキン性リン

バ腫などの混合型腫瘍などが挙げられるが、これらに限定されない。

本発明の放射線防護剤においては、縮合度3～19の環状及び／又は鎖状のポリ乳酸混合物が有効成分として用いられる。

本発明で言う「ポリ乳酸混合物」とは、縮合度3～19の環状及び／又は鎖状のポリ乳酸が任意の割合で存在する混合物を意味する。即ち、「混合物」という用語は、縮合度3～19の何れかを有するポリ乳酸の混合物であることを意味すると同時に、環状および鎖状のポリ乳酸の混合物を含む概念としても用いられる。このような「ポリ乳酸混合物」は、本明細書中以下に述べるように、乳酸を脱水縮合し、適当な方法で精製することにより得ることができる。なお、本明細書では便宜上「ポリ乳酸混合物」という用語を用いたが、この中には一定の縮合度を有する環状のポリ乳酸または一定の縮合度を有する鎖状のポリ乳酸といった単一成分から成るポリ乳酸も含まれる。

縮合度とは、ポリ乳酸中における反復単位である乳酸単位の数を意味する。例えば、環状のポリ乳酸は下記の構造式を有することが推測されるが、式中のnが縮合度を表す（即ち、n=3～19）。



本明細書で単に「乳酸」と称する場合、この乳酸にはL-乳酸、D-乳酸またはこれらの任意の割合の混合物の全てが含まれる。本発明においては好ましくは、乳酸は実質的にL-乳酸から成る。ここで言う「実質的に」とは、ポリ乳酸混合物中におけるL-乳酸単位の比率[即ち、(L-乳酸単位数/L-乳酸単位数+D-乳酸単位数)×100]が、例えば70%以上、好ましくは80%以上、より好ましくは85%以上、さらに好ましくは90%以上、特に好ましくは95%以上であることを意味する。なお、ポリ乳酸混合物中におけるL-乳酸単位の比

率は、出発物質として使用する乳酸中に存在するL-乳酸とD-乳酸の比率に依存する。

縮合度3～19の環状及び／又は鎖状のポリ乳酸混合物の製造方法は、特に限定されるものではないが、例えば、特開平9-227388号公報、特開平10-130153号公報、または特願平11-39894号明細書（これらの特許明細書に記載の内容は全て引用により本明細書の開示として含める。）などに記載の製造方法により得ることができる。

より具体的には、例えば、縮合度3～19の環状及び／又は鎖状のポリ乳酸混合物は、下記の方法Aにより得ることができる。

方法A：

先ず、乳酸（好ましくは、実質的にL-乳酸から成る乳酸）を不活性雰囲気下で脱水縮合させる。不活性雰囲気としては、例えば、窒素ガス、アルゴンガスなどが挙げられるが、窒素ガスを用いるのが好ましい。

脱水縮合反応は、常圧～1mmHg程度の減圧下、110～210°C、好ましくは130～190°Cの温度で行われるが、段階的減圧および段階的昇温によって行うのが特に好ましい。反応時間は適宜設定できるが、例えば1～20時間反応を行うことができる。段階的減圧および段階的昇温を用いる場合には、反応時間を2以上から成る部分的な反応時間に分け、それぞれの部分において圧力と温度を設定して反応を行う。段階的減圧を用いる場合は、例えば、常圧→150mmHg→3mmHgと減圧することができ、段階的昇温を用いる場合は、例えば、145°C→155°C→185°Cと昇温することができる。実際には、これらを組み合わせて、例えば、145°Cで常圧で3時間、145°Cで150mmHgで3時間、155°Cで3mmHgで3時間そして185°Cで3mmHgで1.5時間反応を行うことができる。

次いで、この脱水縮合反応により得られた反応混合物にエタノールおよびメタノールを加え、濾過して濾液を乾燥してエタノールおよびメタノール可溶分が得

られる。即ち、本明細書で言う「エタノールおよびメタノール可溶分」とはエタノールとメタノールの混合液に可溶な画分を意味する。なお、エタノールおよびメタノール可溶分を得る際には、脱水縮合反応の反応混合物をエタノールおよびメタノールと混合するが、その際のエタノールとメタノールの比率は適宜設定することができ、例えばエタノール：メタノール=1：9である。なお、反応混合物にエタノールとメタノールを添加する順番、方法などは限定されず、適宜選択することができ、例えば、脱水縮合反応の反応混合物に先ずエタノールを添加し、次いでメタノールを添加することができる。

上記で得られたエタノール・メタノール可溶分を逆相カラムクロマトグラフィー、特にオクタデシルシラン（ODS）カラムを用いたクロマトグラフィーに付し、まずpH 2～3の25～50重量%のアセトニトリル水溶液で溶離する画分を除去し、次いでpH 2～3の90重量%以上のアセトニトリル水溶液、好ましくは99重量%以上のアセトニトリル水溶液で溶離してくる画分を採取すると、縮合度3～20の環状及び／又は鎖状のポリ乳酸混合物が得られる。

上記のようにして得られた環状及び／又は鎖状のポリ乳酸混合物は、水酸化ナトリウムなどのアルカリ物質で中和し、減圧乾燥後、常法により下記に述べるような所望の形態に製剤化することができる。

本発明で用いる縮合度3～19の環状及び／又は鎖状のポリ乳酸混合物を製造するための別法としては、例えば、特願平11-265715号明細書に記載された方法（方法Bとする）または特願平11-265732号明細書に記載された方法（方法Cとする）を挙げることができる（これらの特許明細書に記載の内容は全て引用により本明細書の開示として含める。）。以下、方法Bおよび方法Cについて具体的に説明する。

方法B：

この方法は、ラクチド（3, 6-ジメチル-1, 4-ジオキサン-2, 5-ジオン）をRYMe（式中、Rは脂肪族基、芳香族基、置換又は未置換のシリル基、

又は乳酸アミド基 ($-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CONH}_2$) 基を示し、Yは酸素原子、イオウ原子、又はNR'を示し、ここでR'は水素原子、脂肪族基または芳香族基を示し、Meはアルカリ金属) で表されるアルカリ金属化合物の存在下で重合させることによって環状乳酸オリゴマーを製造する方法である。

本明細書において脂肪族炭化水素基は、直鎖状、分枝鎖状、環状またはこれらの組み合わせの何れでもよく、また飽和でも不飽和のものでもよく、炭素数は1~12、好ましくは1~6である。脂肪族炭化水素基の例としては、メチル、エチル、プロピル、ブチル、オクチル、ドデシル等の鎖状(直鎖および分枝鎖の両方を含む)のアルキル基、並びにシクロアルキル基(例えば、シクロプロピル、シクロブチル、シクロヘキシルなど)を挙げることができる。

本明細書において芳香族炭化水素基は、アルキル基などの置換基を有していてもよいアリール基、アリールアルキル基が含まれ、炭素数は6~12、好ましくは6~10である。アルキル基などの置換基を有していてもよいアリール基としては、フェニル、トリル、ナフチル等が挙げられ、アリールアルキル基としては、ベンジル、フェネチル、ナフチルメチル等が挙げられる。

置換又は未置換のシリル基における置換基としては、脂肪族炭化水素基又は芳香族炭化水素基などが挙げられ、置換シリル基の具体例としては、トリメチルシリル基、トリフェニルシリル基又はt-ブチルジメチルシリル基などが挙げられる。

Meで表されるアルカリ金属としては、リチウム、ナトリウムまたはカリウムなどが挙げられ、好ましくはリチウムである。

R'YMeで表されるアルカリ金属化合物は、n-ブチルリチウム等のアルキルアルカリ金属にR'-YH(式中、R'は脂肪族炭化水素基又は芳香族炭化水素基を示し、Yは酸素原子又はイオウ原子を示す)を反応させることによって得ることができる。

具体的には、R'-YHで表されるアルコール化合物またはチオール化合物を適当な溶媒(例えば、無水テトラヒドロフランまたは無水ジエチルエーテルなど

のエーテル系溶媒など)に溶解した溶液に、アルコール化合物またはチオール化合物とほぼ等しい当量のn-ブチルリチウム等のアルキルアルカリ金属を添加し、攪拌することで反応を行うことができる。

反応は低温(例えば-78°C)で数分~1時間程度行えばよい。

ラクチド(3,6-ジメチル-1,4-ジオキサン-2,5-ジオン)を、アルカリ金属化合物(RYMe)の存在下で反応させて本発明で用いる環状乳酸オリゴマーを製造する際には、上記で得たアルカリ金属化合物を含む反応混合物に、適当な溶媒(例えば、無水テトラヒドロフランなど)中のラクチド溶液を添加して、攪拌することによって環状乳酸オリゴマーを製造することができる。

アルカリ金属化合物(RYMe)とラクチドの使用量はモル比で1:1~1:10、好ましくは1:2~1:5程度であり、例えば、1:3または1:4である。

反応温度は-78°C~室温である。反応は、-78°Cの温度で開始し、徐々に室温にまで昇温するように実施するのが好ましい。また、反応圧力は特に限定されず、好ましくは常圧である。

上記したようにこの反応は、好ましくは溶媒の存在下で実施される。反応溶媒としては、反応に不活性な溶媒が好ましく、例えば、エーテル系溶媒(無水テトラヒドロフランまたは無水ジエチルエーテルなど)等を用いることができる。

反応は、窒素ガスやアルゴンガス等の不活性ガス雰囲気下で行うのが好ましい。

前記のようにして得られる乳酸オリゴマーの組成(即ち、環状乳酸オリゴマーと鎖状乳酸オリゴマーの混合比率)は、反応助剤として用いるアルカリ金属化合物によって変動する。アルカリ金属化合物として炭素数1~3のアルキルアルコールのアルカリ金属化合物(ROMe)(式中、Rは炭素数1~3のアルキル基を示し、Meはアルカリ金属を示す)を用いる場合には、環状乳酸オリゴマーと鎖状オリゴマーとの混合物(環状乳酸オリゴマーの割合:80~85重量%)が得られる。一方、アルカリ金属化合物としてt-ブチルアルコール等の炭素数4以上のアルキルアルコールのリチウム化合物や、チオフェノール化合物を用いると

きには、実質的に環状乳酸オリゴマーのみを選択的に得ることができる。

本発明で用いる乳酸オリゴマーの重合度は3～19であり、好ましくは3～17である。この重合度は、使用するアルカリ金属化合物の種類、反応温度、反応時間によって変動する。

また、上記したアルカリ金属化合物の存在下におけるラクチドの重合反応の反応生成物の中には、異なる重合度の環状の（さらに場合によっては鎖状の）乳酸オリゴマーの混合物が存在するものと考えられる。本発明では、異なる重合度の乳酸オリゴマーから成る混合物を用いることができるが、上記した異なる重合度の乳酸オリゴマーを含む反応混合物から異なる分子量の化合物を分離するのに適した手段（例えば、ゲルfiltration、HPLCなど）によって一定の重合度を有する単一の乳酸オリゴマーを精製し、これを用いてもよい。

前記した環状乳酸オリゴマーの製造方法において、アルカリ金属化合物として、乳酸アミドのアルカリ金属化合物（特にはリチウム化合物）（即ち、Rが $-\text{CH}(\text{C}_\text{H}_3)_2\text{CONH}_2$ 基である化合物）を用いる以外は前記と同様にして反応を行うことによっても、実質的に環状乳酸オリゴマーのみを選択的に得ることができる。

方法C：

この方法は、(i) 乳酸を350～400mmHgの圧力条件で120～140°Cの範囲の温度に加熱し、脱水縮合反応させるとともに、ラクチドを留出させずに副生水のみを留出除去する第1加熱工程、

(ii) 該第1加熱工程終了後、反応生成物を150～160°Cの温度に加熱し、該反応圧力を降圧速度0.5～1mmHg/分で15～20mmHgまで降下させるとともに、その降圧に際し、ラクチドの留出を回避させながら副生水のみを留出除去し、該反応圧力が15～20mmHgに降下後、同圧力条件及び反応温度150～160°Cにおいてさらに反応を継続して鎖状乳酸オリゴマーを主成分とする脱水縮合物を生成させる第2加熱工程、

(iii) 該第2加熱工程終了後、0.1～3mmHgの圧力条件で150～1

60°Cで加熱して該鎖状乳酸オリゴマーを環化させ、環状オリゴマーを生成させる第3加熱工程、

からなることを特徴とする方法である。

この方法では先ず、第1加熱工程において、減圧下において乳酸を加熱し、脱水縮合反応させる。この場合の反応時間は3~12時間、好ましくは5~6時間である。この第1加熱下での反応は、その反応を円滑に進行させるために、乳酸の脱水縮合により生成する副生水を留去させるが、この場合、乳酸2分子の脱水縮合物であるラクチドが留去しないように実施する。このためには、反応圧力を減圧、好ましくは300~500mmHg、より好ましくは350~400mmHgに保持し、この圧力条件下において、100~140°C、好ましくは130~140°Cの範囲に加熱するのがよい。この第1加熱工程での反応により、主に、乳酸の3~23分子の脱水縮合物を主成分とする反応生成物が生じる。

上記第1加熱工程の終了後、第2加熱工程において、高められた平均重合度のオリゴマーが得られるように、前記第1加熱工程における反応温度よりも高められた温度、好ましくは145~180°C、より好ましくは150~160°Cの温度に加熱するとともに、反応圧力を10~50mmHg、好ましくは15~20mmHgの圧力に降下させてさらに脱水縮合反応を継続する。

この反応も、前記第1加熱工程の反応の場合と同様に、反応を円滑に進行させるために副生水を留去させるが、ラクチドが留去しない条件で実施する。反応圧力を前記範囲の圧力にまで降下させる速度（降圧速度）は、ラクチドの留出を回避し、且つ反応効率を高めるためには、0.25~5mmHg/分、好ましくは0.5~1mmHg/分の範囲に保持することが通常は必要である。前記範囲より低い降圧速度では、その所定圧まで降圧させるのに必要な時間が長くなるため好ましくなく、一方、前記範囲より高い降圧速度では、ラクチドが副生水とともに留去するようになるので好ましくない。

反応圧力が所定圧力にまで降下後、この反応圧力において、さらに反応を継続する。この場合の加熱時間は、3~12時間、好ましくは5~6時間である。

前記第2加熱工程での反応により、平均重合度が3～30、好ましくは3～23の乳酸オリゴマーが得られるが、この場合のオリゴマー中の環状オリゴマーの割合は、通常、70～80重量%程度である。

上記第2加熱工程終了後、第3加熱工程において、反応圧力を0.25～5m mHg 、好ましくは0.5～1mm Hg に保持し、145～180°C、好ましくは150～160°Cの温度でさらに反応を継続する。反応時間は3～12時間、好ましくは5～6時間である。この場合に生じる副生水も留去させる。この場合、ラクチドの留去も回避させることができが、反応生成物にはラクチドは殆んど含まれないので、その降圧速度を格別遅くする必要はない。

前記第3加熱工程での反応により、平均重合度3～30、好ましくは3～23で、かつ環状オリゴマーの割合が90重量%以上、好ましくは99重量%以上の乳酸オリゴマーが生成される。

なお、上記方法A、BおよびCは本発明で用いるポリ乳酸混合物の製造方法の具体例の一部を示したものにすぎず、本発明においては他の方法で製造されたポリ乳酸混合物を用いることもできる。

本発明の放射線防護剤の製剤形態は特に限定されず、経口投与又は非経口投与用の製剤形態の中から治療や予防の目的に最も適した適宜の形態のものを選択することが可能である。経口投与に適した製剤形態としては、例えば、錠剤、カプセル剤、散剤、顆粒剤、細粒剤、シロップ剤、溶液剤、乳剤、懸濁剤、チュアブル剤などを挙げることができ、非経口投与に適する製剤形態としては、例えば、注射剤(皮下注射、筋肉内注射、又は静脈内注射など)、点滴剤、吸入剤、噴霧剤、坐剤、ゲル剤若しくは軟膏剤などの形態の経皮吸収剤、経粘膜吸収剤、貼付剤若しくはテープ剤などの形態の経皮吸収剤などを挙げることができるが、これらに限定されることはない。好ましくは、経口投与に適した製剤形態である。

経口投与に適当な液体製剤、例えば、溶液剤、乳剤、又はシロップ剤などは、水、蔗糖、ソルビット、果糖などの糖類、ポリエチレングリコール、プロピレングリコールなどのグリコール類、ごま油、オリーブ油、大豆油などの油類、p-

ヒドロキシ安息香酸エステル類などの防腐剤、ストロベリーフレーバー、ベバーミントなどのフレーバー類などを用いて製造することができる。また、カプセル剤、錠剤、散剤、又は顆粒剤などの固体製剤の製造には、乳糖、ブドウ糖、蔗糖、マンニットなどの賦形剤、澱粉、アルギン酸ソーダなどの崩壊剤、ステアリン酸マグネシウム、タルクなどの滑沢剤、ポリビニールアルコール、ヒドロキシプロピルセルロース、ゼラチンなどの結合剤、脂肪酸エステルなどの界面活性剤、グリセリンなどの可塑剤などを用いることができる。

非経口投与に適当な注射用又は点滴用の製剤は、好ましくは、受容者の血液と等張な滅菌水性媒体に有効成分である上記の物質を溶解又は懸濁状態で含んでいる。例えば、注射剤の場合、塩溶液、ブドウ糖溶液、又は塩水とブドウ糖溶液との混合物からなる水性媒体などを用いて溶液を調製することができる。腸内投与のための製剤は、例えば、カカオ脂、水素化脂肪、又は水素化カルボン酸などの担体を用いて調製することができ、座剤として提供される。また、噴霧剤の製造には、有効成分である上記の物質を微細な粒子として分散させることができ、受容者の口腔および気道粘膜を刺激せず、かつ有効成分の吸収を容易ならしめる担体を用いることができる。担体としては、具体的には、乳糖又はグリセリンなどが例示される。有効成分である物質及び使用する担体の性質に応じて、エアロゾル又はドライパウダーなどの形態の製剤が調製可能である。これらの非経口投与用製剤には、グリコール類、油類、フレーバー類、防腐剤、賦形剤、崩壊剤、滑沢剤、結合剤、界面活性剤、可塑剤などから選択される1種又は2種以上の補助成分を添加することもできる。

本発明の放射線防護剤の投与量及び投与回数は、防護すべき放射線の種類や照射量、治療の対象となる疾患の状態または重症度、投与形態、患者の年齢や体重などの条件などの種々の要因により適宜設定することができるが、一般的には、有効成分の投与量として一日当たり $20 \sim 2000 \text{ mg/kg}$ 、好ましくは $20 \sim 200 \text{ mg/kg}$ 、より好ましくは $50 \sim 150 \text{ mg/kg}$ である。上記投与量の医薬を一日1～4回程度、好ましくは2～4回程度に分けて投与することが好ましい。

本発明の放射線防護剤を放射線防護のために使用する場合には、放射線の照射（被爆）の前に投与することが好ましく、例えば放射線の照射（被爆）の2カ月前から2週間前に投与することができる。

本発明の放射線防護剤は、ヒトを含む任意の哺乳動物に投与することができるが、好ましくはヒトに投与される。

本発明で用いる縮合度3～19の環状及び／又は鎖状のポリ乳酸混合物は、放射線防護剤として使用するのみならず、栄養ドリンク剤などのドリンク剤に配合したり、食品添加物として健康食品などの食品類に配合することもできる。縮合度3～19の環状及び／又は鎖状のポリ乳酸混合物を含む本発明による飲食品の製品の具体例としては、清涼飲料、ドリンク剤、健康食品、特定保健用食品、機能性食品、機能活性型食品、栄養補助食品、サプレメント、飼料、飼料添加物などと一般に呼称される、飲料を含む健康食品または補助食品が挙げられる。

ポリ乳酸混合物を配合できる飲食品の具体例としては、例えば、チューインガム、チョコレート、キャンディー、錠菓、ゼリー、クッキー、ビスケット、ヨーグルト等の菓子類、アイスクリーム、氷菓等の冷菓類、茶、清涼飲料（ジュース、コーヒー、ココア等を含む）、栄養ドリンク剤、美容ドリンク剤等の飲料、パン、ハム、スープ、ジャム、スパゲティー、冷凍食品など全ての飲食物を挙げることができる。あるいは、本発明で用いるポリ乳酸混合物は調味料、食品添加剤などに添加して用いることもできる。

本発明の上記飲食品を用いることにより、放射線防護効果を発揮でき、実質的に有害な副作用を示さない安全な飲食品を提供することができる。

本発明の飲食品は、健康食品または補助食品などのあらゆる形態の飲食品を包含するものであり、その種類は特に制限されず、上記したような各種飲食物、あるいは各種栄養組成物、例えば各種の経口又は経腸栄養剤や飲料等に、縮合度3～19の環状及び／又は鎖状のポリ乳酸混合物を配合して飲食品として提供することができる。このような飲食品の組成としては、縮合度3～19の環状及び／又は鎖状のポリ乳酸混合物の他に、蛋白質、脂質、糖質、ビタミン及び／又はミ

ネラル類などを含めることができる。飲食品の形態は特に限定されず、摂取しやすい形態であれば、固形、粉末、液体、ゲル状、スラリー状等のいずれであってもよい。

飲食品中におけるポリ乳酸混合物の含有量は特に限定されないが、一般的には0.1～20重量%、より好ましくは0.1～10重量%程度である。

飲食品に含まれるポリ乳酸混合物の量は、本発明の目的を発揮できる程度に含まれることが好ましく、好ましくは摂取される飲食物1食中に0.1gから10g程度、より好ましくは0.5gから3g程度である。

以下の実施例により本発明をさらに具体的に説明するが、本発明は実施例によっていかなる点においても限定されることはない。

実施例

製造例1：ポリ乳酸混合物の製造

マントルヒーターに収めたセパラブルフラスコにL-乳酸（D-乳酸も混入しているもの）500mlを入れた。窒素ガス300ml/分の流入及び攪拌を行い、溜出水は保温した下降型接続管を経て還流冷却器付フラスコに導きながら、145°Cで3時間加熱した。更に150mmHgに減圧して同温度で3時間加熱した後、3mmHgの減圧下155°Cで3時間、最後に3mmHgの減圧下185°Cで1.5時間加熱し、反応生成物であるポリ乳酸を得た。

得られたポリ乳酸は100°Cに保ち、エタノール100mlに続いてメタノール400mlをそれぞれ加えた後放冷した。これをメタノール500ml中に加え、よく攪拌して静置した後濾過して精製した。その濾液を減圧乾燥してアセトニトリルに溶解し、全量を200ml（原液）とした。

この原液を、予め平衡化した逆相ODSカラム（TSK gel ODS-80TM）にかけ、0.01M塩酸を含む30%、50%および100%アセトニトリル（pH 2.0）でステップワイズに溶離し、アセトニトリル100%溶出画分であるポリ乳酸（縮合度3～19）を得た。得られた物質の質量スペクトルを図1に示

す。図1中の規則的なフラグメントイオンピークから明らかなように、得られたポリ乳酸の混合物は、環状縮合体を主体とし、直鎖状縮合体が少量混在した状態になっている。

試験例1：

8～11週令の雌C3H/HeLaマウスをアクリルケースに収容して飼育した。マウスは、標準固体食CE2(日本クリア株式会社より入手)を自由摂取させて飼育するコントロール群と、0.1重量% (製造例1においてクロマトで得られた画分をそのまま使用し、その濃度が0.1重量%) のポリ乳酸混合物(以下、CPLとも称する)を含む標準固体食CE2を自由摂取させて飼育するCPL群とに分けた。CPL投与開始後55日目に4～8GyのX線を全身照射した。照射後、経時的に観察し、生存マウス数を記録した。その結果、4～7Gyの照射においては、コントロール群およびCPL群の全マウスが生存した。一方、8Gyの照射においては、コントロール群の死亡率は55.6% (5頭/9頭) であり、CPL投与群の死亡率は11.1% (1頭/9頭) であった。

試験例2：

試験例1と同様にマウスを飼育し、CPL投与開始後58日目に7.5～9.5Gyの放射線の全身照射を行った。その結果、LD50/30は、コントロール群で8.03 (7.85～8.20) Gy、CPL投与群で13.70 (13.37～14.03) Gyであった。

試験例3：

コントロール群およびCPL投与群 (CPL投与期間：照射13日前～実験終了) の2群について同一線量 (7.5～8.5Gy) を全身照射した。照射後、経時的にマウスを観察し、生存マウス数を記録した。その結果を図2～図4に示す。

図2および図3の結果から、CPL投与群(図3)の方が、コントロール群(図2)よりも生存率が高いことが分かる。また、図4に示す通り、LD50/30は、コントロール群においては7.57(7.44~7.71)Gyであり、CPL投与群においては8.00(7.91~8.09)Gyであった。これらの結果から、放射線照射前からCPL投与を開始した場合には、放射線防護効果が奏されることが実証された。

また、図4の結果から、CPL投与群(図3)の方が、コントロール群(図2)よりも平均生存日数が長いことが分かる。

さらに、マウスの全身照射後100日目における平均生存日数を以下に示す。

放射線量	コントロール群	CPL群
7.5 Gy	71日	全例生存
7.75 Gy	34日	92日
8.0 Gy	25日	61日
8.25 Gy	19日	26日
<u>8.5 Gy</u>	<u>16日</u>	<u>16日</u>

これらの結果から分かるように、放射線照射前からCPL投与を開始した場合には、放射線防護効果が奏されることが実証された。

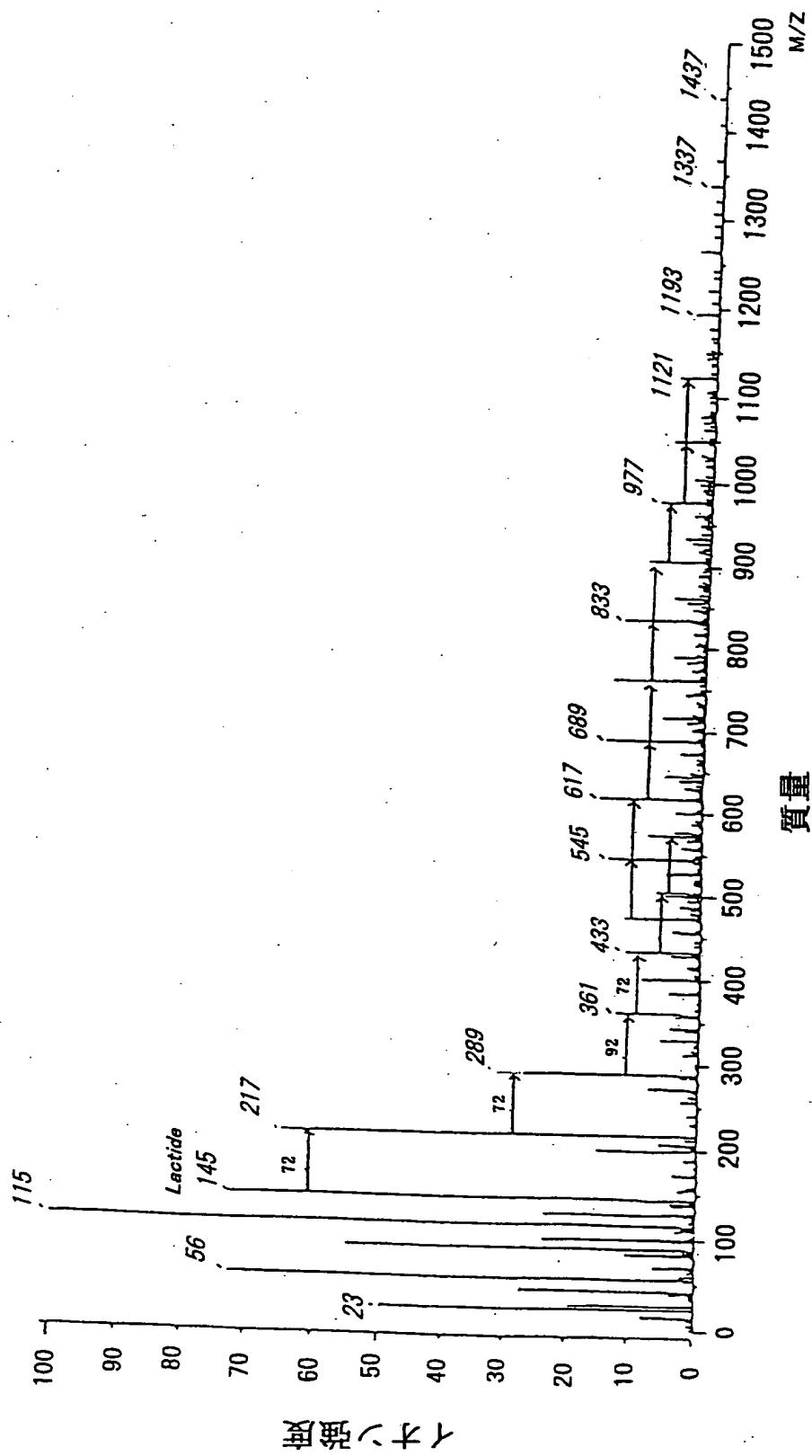
産業上の利用の可能性

本発明による縮合度3~19の環状及び/又は鎖状のポリ乳酸混合物を有効成分として含む放射線防護剤は、放射線照射前に投与した場合に、放射線の全身照射に対して放射線防護効果を示す。また、本発明において有効成分として使用されるポリ乳酸混合物は、生体成分に由来する乳酸の低縮合体であることから、生体適合性が高く、副作用が少ない。

請求の範囲

1. 縮合度 3 ~ 19 の環状及び／又は鎖状のポリ乳酸混合物を有効成分として含む、放射線防護剤。
2. 放射線療法の障害の予防及び／又は治療のために使用される、請求項 1 に記載の放射線防護剤。
3. ポリ乳酸中における反復単位である乳酸が実質的に L-乳酸から成る、請求項 1 または 2 に記載の放射線防護剤。
4. 縮合度 3 ~ 19 の環状及び／又は鎖状のポリ乳酸混合物が、乳酸を不活性雰囲気下で脱水縮合し、得られた反応液のエタノールおよびメタノール可溶分を逆相カラムクロマトグラフィーに付し、pH 2 ~ 3 の 25 ~ 50 重量% のアセトニトリル水溶液で溶離後、pH 2 ~ 3 の 90 重量% 以上のアセトニトリル水溶液で溶離した画分である、請求項 1 から 3 の何れか 1 項に記載の放射線防護剤。
5. 脱水縮合を窒素ガス雰囲気下、段階的減圧及び昇温により行う、請求項 4 に記載の放射線防護剤。
6. 逆相カラムクロマトグラフィーを、ODS カラムクロマトグラフィーにより行う請求項 4 または 5 に記載の放射線防護剤。
7. 縮合度 3 ~ 19 の環状及び／又は鎖状のポリ乳酸混合物を有効成分として含む放射線防護用の飲食品。

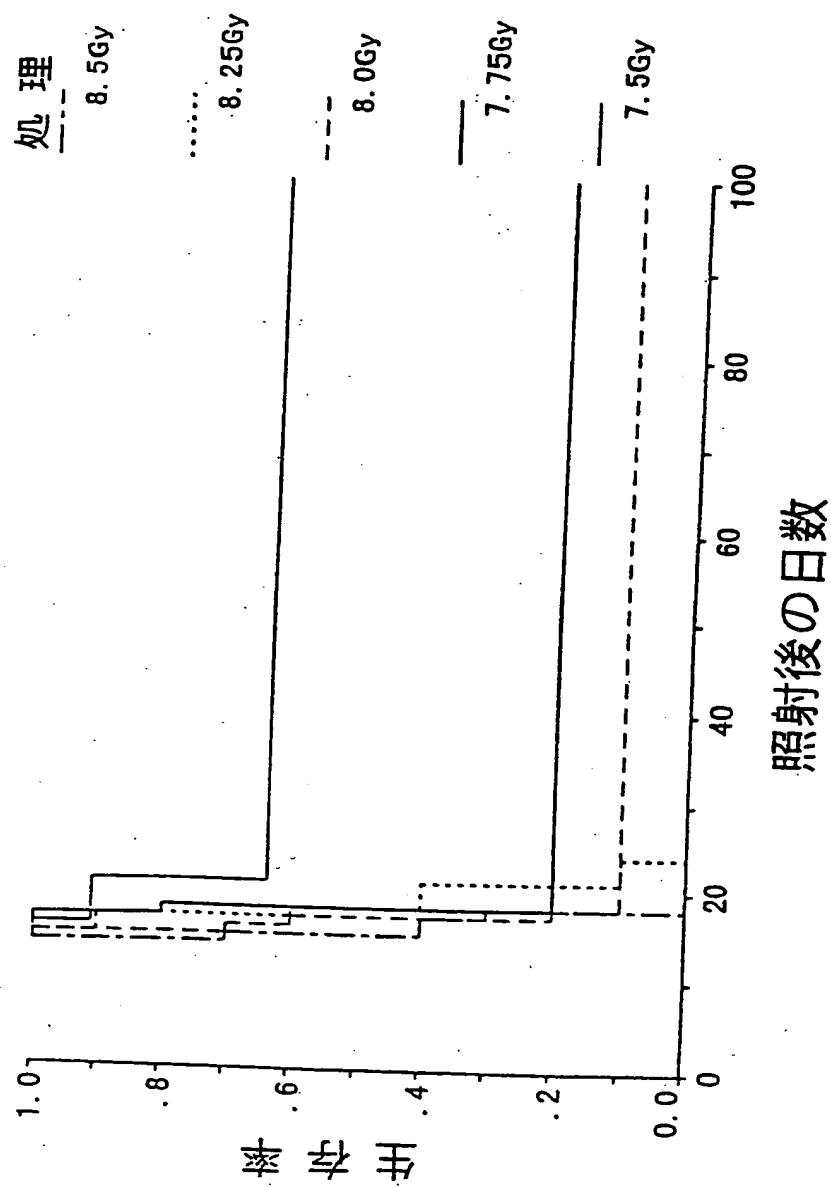
第1図



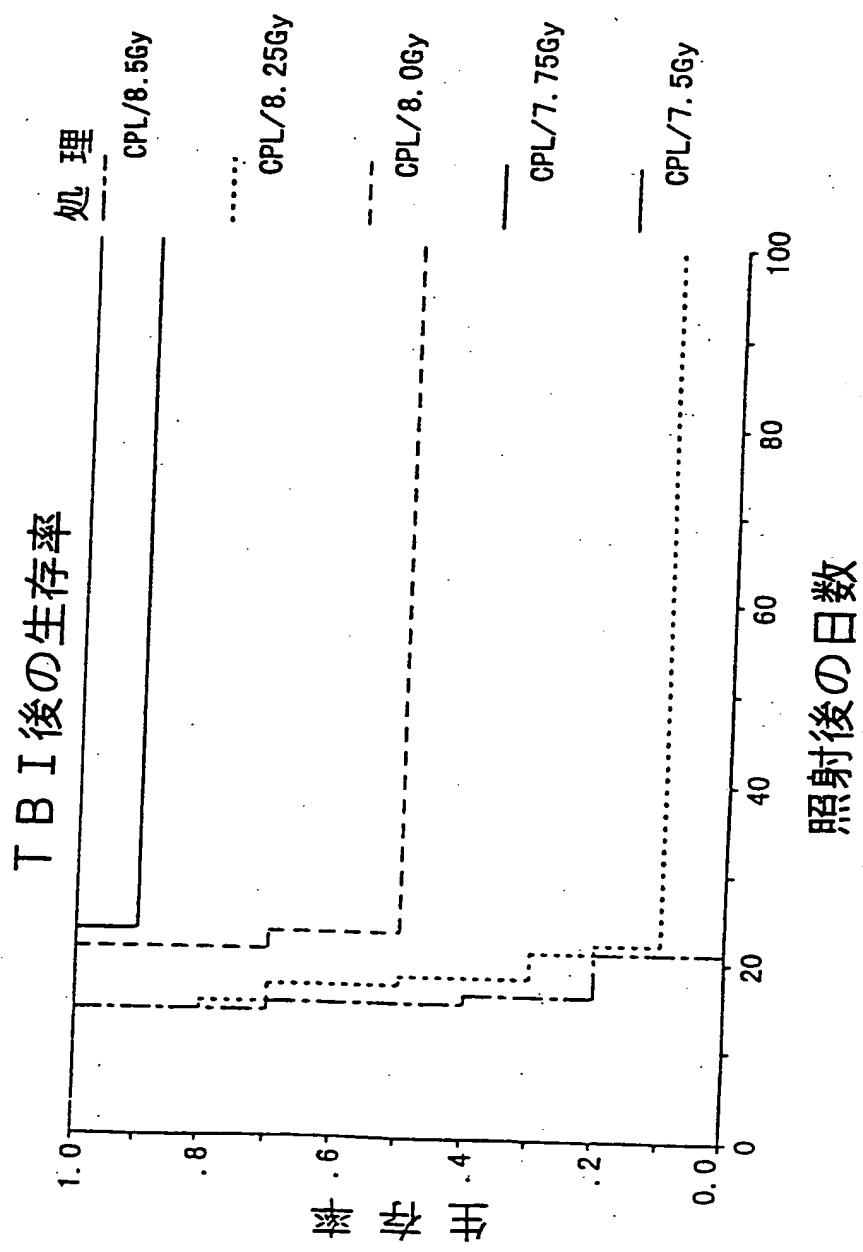
抽離六六六

第2図

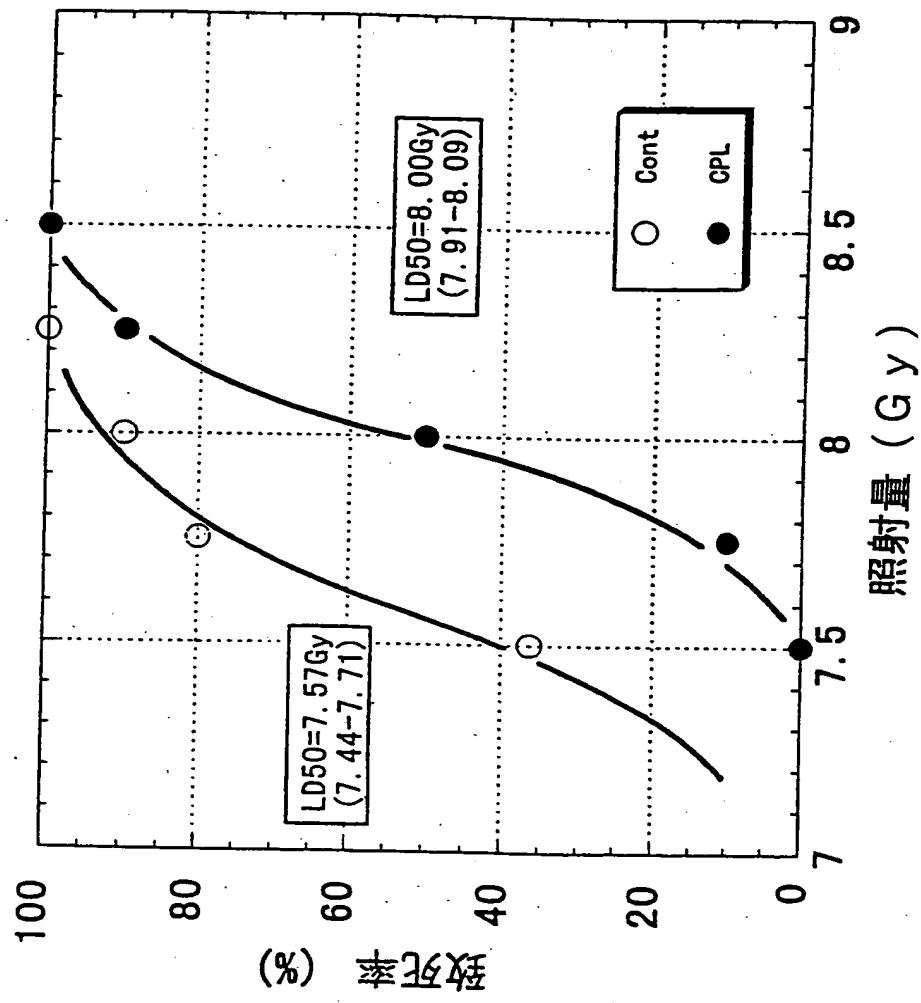
TBI後の生存率



第3図



第4図



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/08423

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
Int.Cl⁷ A61K31/765, A61P43/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
Int.Cl⁷ A61K31/765, A61P43/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
CAPLUS (STN), MEDLINE (STN), EMBASE (STN), BIOSIS (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP, 10-130153, A (Shumeido K.K.), 19 May, 1998 (19.05.98), abstract; Claims; Par. No. [0030] (Family: none)	1-7
X	JP, 9-227388, A (Tetsuaki NAGANUSHI), 02 September, 1997 (02.09.97), abstract; Claims; Par. No. [0031] (Family: none)	1-7
A	JP, 7-233061, A (Global Art K.K.), 05 September, 1995 (05.09.95), abstract (Family: none)	1-7
A	JP, 6-336427, A (Global Art K.K.), 06 December, 1994 (06.12.94), abstract (Family: none)	1-7
A	JP, 5-310581, A (Koken K.K.), 22 November, 1993 (22.11.93), abstract (Family: none)	1-7
PA	JP, 2000-72680, A (Shumeido K.K.), 07 March, 2000 (07.03.00),	1-7

 Further documents are listed in the continuation of Box C. See patent family annex.

• Special categories of cited documents:	
“A” document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	“T” later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
“E” earlier document but published on or after the international filing date	“X” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
“L” document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	“Y” document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
“O” document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
“P” document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	“&” document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search 13 February, 2001 (13.02.01)	Date of mailing of the international search report 27 February, 2001 (27.02.01)
---	--

Name and mailing address of the ISA/ Japanese Patent Office	Authorized officer
--	--------------------

Facsimile No.	Telephone No.
---------------	---------------

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/08423

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
PA	<p>abstract; Claims; Par. Nos. [0001], [0008] (Family: none)</p> <p>JP, 2000-239171, A (Tokai Kyoiku Sangyo K.K.), 05 September, 2000 (05.09.00), abstract (Family: none)</p>	1-7

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. C1' A61K31/765, A61P43/00

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. C1' A61K31/765, A61P43/00

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CAPLUS (STN), MEDLINE (STN), EMBASE (STN), BIOSIS (STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	JP, 10-130153, A (株式会社主命堂) 19. 5月. 1998 (19. 05. 98) 【要約】、【特許請求の範囲】、 【0030】 ファミリーなし	1-7
X	JP, 9-227388, A (長主 哲明) 02. 9月. 1997 (02. 09. 97) 【要約】、【特許請求の範囲】、 【0031】 ファミリーなし	1-7

 C欄の続きにも文献が列挙されている。 パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献

「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

13. 02. 01

国際調査報告の発送日

27.02.01

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

津賀下 告一

4C 9284

電話番号 03-3581-1101 内線 3452

C (続き) 関連すると認められる文献		関連する 請求の範囲の番号
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	
A	JP, 7-233061, A (グローバルアート株式会社) 05. 9月. 1995 (05. 09. 95) 【要約】 ファミリーなし	1-7
A	JP, 6-336427, A (グローバルアート株式会社) 06. 12月. 1994 (06. 12. 94) 【要約】 ファミリーなし	1-7
A	JP, 5-310581, A (興研株式会社) 22. 11月. 1993 (22. 11. 93) 【要約】 ファミリーなし	1-7
PA	JP, 2000-72680, A (株式会社主命堂) 07. 3月. 2000 (07. 03. 00) 【要約】、【特許請求の範囲】、 【0001】、【0008】 ファミリーなし	1-7
PA	JP, 2000-239171, A (東海教育産業株式会社) 05. 9月. 2000 (05. 09. 00) 【要約】 ファミリーなし	1-7